

التحليل الكروماتوغرافي - الكتلي لبعض المركبات الفعالة حيويًا في اثنين من النباتات الطبية اليمنية

عيشة محمّد علي محسن¹، عادل أحمد محمّد سعيد^{2*}، طه أبوبكر فضل سالم¹

¹ قسم الكيمياء، كلية التربية، جامعة عدن، عدن، الجمهورية اليمنية

² قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة عدن، عدن، الجمهورية اليمنية

ORCID ID: 0000-0002-1154-2994- Email: adel_saeed73@yahoo.com *

الملخص

تمتلك النباتات الطبية العديد من المكونات ذات الفاعلية الحيوية المتأتمية من منتجات الأيض الثانوية، وتستخدم لعلاج العديد من الأمراض. تناولت الدراسة اثنين من النباتات التي تنمو في اليمن والمستخدم في الطب الشعبي، وهما اللافندر الزغبي (*Lavandula pubescens Decne*) والدورستينا فويتيدا (*Dorstenia foetida*). تم التحليل النوعي للمستخلص الميثانولي للنباتين، لمعرفة نوعية مكونات الأيض الثانوية فيها بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء المرتبطة بمطيافية الكتلة (HPLC-MS). كشف التحليل عن وجود العديد من المكونات الفعالة في النباتين مثل الفلافونيدات والتربينات والقلويدات والكومارينات. احتوى نبات الدورستينا فويتيدا على العديد من الأنواع المختلفة من الفلافونيدات والكومارينات، إضافة إلى نوع واحد من القلويدات، بينما كشف تحليل نبات اللافندر الزغبي عن وجود العديد من التربينات والقلويدات ونوع واحد من الستيرويدات.

الكلمات المفتاحية: النباتات الطبية، الدورستينا فويتيدا، اللافندر الزغبي، منتجات الأيض الثانوية، التحليل الكروماتوغرافي - الكتلي.

Title:

Chromatography-mass spectrometry analysis of some bioactive compounds in two Yemeni medicinal plants

Aisha Mohammed Ali Mohsen¹, Adel A. M. Saeed^{2*}, Taha Abubaker Fdhel Salem¹

¹ Faculty of Education, University of Aden, Aden, Yemen

² Faculty of Science, University of Aden, Aden, Yemen

Abstract

Medicinal plants have a broad range of bioactive substances due to the secondary metabolite compositions and used in treatment of several diseases. This study aimed at investigating the methanolic extraction of the bioactive compounds in two Yemeni medicinal plants (*Dorstenia foetida* and *Lavandula pubescens Decne*) using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. The proposed method provided a tentative identification of several constituents such as alkaloids, flavonoid, steroids, terpenoids and coumarin in the studied plants.

Keywords: Medicinal Plants, *Dorstenia foetida*, *Lavandula pubescens Decne*, Secondary Metabolites, HPLC-MS Analysis

Received 27 February 2021; accepted 05 September 2021; published 31 October 2021.

© 2021 The Author(s), licensee HBKU Press. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Cite this as: Mohsen AMA, Saeed AAM, Salem TAF Chromatography-mass spectrometry analysis of some bioactive compounds in two Yemeni medicinal plants. Arabian Journal of Scientific Research 2021;2.10. <https://doi.org/10.5339/ajsr.2021.10>

توجد الدورستينا فويتيدا في المناطق شبه الاستوائية، وتحديداً في أفريقيا وشبه الجزيرة العربية، مثل إثيوبيا والصومال وكينيا وتنزانيا، والمملكة العربية السعودية واليمن وعمان. ويستوطن هذا النبات في الأدغال والأماكن المفتوحة وعلى التواءات الصخرية.⁴⁹⁻⁴⁷

أما نبات اللافندر الزغبي «اللافندر بيسنس ديكن» (*Lavandula pubescens Decne*) فينتشر في دول حوض البحر المتوسط وبلاد الشام ومصر والهند، كما يُزرع في جنوب أوروبا وبلغاريا وروسيا والولايات المتحدة الأمريكية.^{51,50} وهو واسع الانتشار في مواسم الأمطار في المرتفعات الجبلية بالجمهورية اليمنية،⁴⁷ وأيضاً في الجزيرة العربية وشمال غرب أفريقيا وآسيا.⁴² أصبحت عملية الفصل والتعرف على المكونات الفعالة الموجودة في منتجات الأيض الثانوية التي تحتويها النباتات من الأمور المهمة في معظم الدراسات السابقة والحالية. ويمكن أن تدمج الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) (وهي تقنية فصل) بمطيفية الكتلة (MS) (وهي تقنية تعريف وكشف) ليشكل هذا الترابط تقنية أكثر فعالية ودقة وأسهل وأقل تكلفة تستخدم فيها كميات صغيرة (أقل من 1غم) من العينات المدروسة البيئية أو الصناعية أو الطبية لتحليلها.⁵⁴⁻⁵²

توجد عدة طرق للتأين، مثل التأين الإلكتروني والتأين الكيميائي، ويتم فيها تجزئة المادة لتحليلها بشكل أكثر وضوحاً وسهولة. ومن هذا المنطلق، تم تطوير طريقة زمن التحليق (Time of Flight) لتأين مطيافية الكتلة (TOF ESI-MS) للتعرف على المركبات على أساس الكتلة الجزيئية، حيث يستخدم مقاييس الطيف الكتلي - زمن التحليق لتحديد العينات المعقدة، وتشخيصها ومعرفة مكوناتها. كما يمكن استخدام هذه الطريقة في التحليل الكمي لمقدرتها على توفير السرعة والحساسية والدقة والمدى الديناميكي مجتمعة معاً، مما يتيح لنا الحصول على معظم المعلومات المطلوبة من العينات قيد الدراسة.^{56,55}

تناولت دراستنا الحالية الكشف عن المكونات الفعالة في منتجات الأيض الثانوية في نباتي اللافندر الزغبي (*Lavandula pubescens Decne*) والدورستينا فويتيدا (*Dorstenia foetida*)، حيث تم تحليل المستخلص الميتانولي لهذين النباتين باستخدام تقنية (HPLC-TOF-MS) للكشف عن بعض المكونات ذات التأثير الحيوي. ينتمي نبات اللافندر الزغبي إلى العائلة الشفوية، ويستخدم في الموروث الشعبي في اليمن لعلاج أمراض الحساسية كما يستخدم بهاراً، بينما يندرج نبات الدورستينا فويتيدا ضمن العائلة التوتية ويستخدم في علاج الأمراض الجلدية المختلفة والتهابات الصدر.

2- تصنيف النباتات

يمتلك نباتا الدراسة العديد من الأسماء الشائعة؛ فاللافندر الزغبي (*Lavandula pubescens Decne*) يسمى محلياً في اليمن بأسماء منها: فحة، فحية، عطان، عويس، في حين يطلق عليه في السعودية اسم ضرم، وفي بلاد الشام يسمى خزامى، بينما يعرف نبات الدورستينا فويتيدا (*Dorstenia foetida*) محلياً باسم الفالقة أو الكسار، وفي سلطنة عمان كرثيب أو زهرة الدرغ بلغة أهل ظفار، وفي السعودية يعرف باسم فلق بعر. ومع هذا، يظل الاسم العلمي اللاتيني للنبات هو السائد لسهولة التعرف عليه وخضوعه للتصنيف العالمي. ويبين الشكل (1) تصنيف نباتي الدراسة الحالية.

تعتبر النباتات مخزناً ضخماً للمنتجات الطبيعية، التي تصنف إلى منتجات أيض أولية وهي أساسية للتغذية (كالكربوهيدرات والبروتينات ... إلخ)، ومنتجات أيض ثانوية وهي المكونات الفعالة في النباتات، وتنتج من منتجات الأيض الأولية ويستخدمها النبات مواداً دفاعية ولحمية نفسه من أي هجوم خارجي عليه، كما تمكنه من التكيف مع بيئته. تمتلك منتجات الأيض الثانوية أهمية في تعزيز صحة الإنسان من خلال استخدام هذه المنتجات كمضادات أكسدة أو مضادات للجراثيم، وكذا رفع كفاءة النظام المناعي تجاه معظم الفيروسات وعلاج العديد من الأمراض التي قد تصيب الإنسان.¹⁰⁻¹

يوجد العديد من منتجات الأيض الثانوية التي تتمتع بتراكيب ومجاميع كيميائية مختلفة، منها الفينولات التي ثبتت تأثيراتها الحيوية الواسعة، وتصنف إلى عدة أنواع، منها الفلافونيدات، والقلويدات، والجليكوسيدات، والتانينات، والصابونينات، والستيرويدات، والكومارينات والتربينات.¹¹ تتضمن الفلافونيدات أنواعاً عديدة، منها الفلافونات، والفلافونونات والفلافونولات.^{13,12} وعموماً، تستخدم الفلافونيدات في جوانب علاجية متعددة، حيث تستخدم كمضادات للتأكسد وعلاجات للأمراض القلبية ومضادات للسرطانات، والالتهابات والحساسية.^{16-14,7}

تشكل القلويدات مجموعة متنوعة جداً وذات أوزان جزيئية منخفضة. وتحتوي القلويدات في تركيبها على النيتروجين غير المتجانس الذي يشق غالباً من أحماض أمينية، وتنتج النباتات نحو 12000 من القلويدات المختلفة.¹⁷ وتظهر القلويدات فاعلية حيوية كمضادات للأكسدة ومضادات للبكتيريا.^{19,18} تمتلك التانينات أوزاناً جزيئية عالية يستخدمها الإنسان كمضادات للأكسدة والسرطانات والجراثيم.²²⁻²⁰ كما تؤدي دوراً كبيراً في حماية النباتات من الأمراض وما قد يهاجمها.^{24,23}

تتكون الجليكوسيدات من جزء سكري مرتبط برابطة خاصة بجزء لاسكري، وهو غالباً فينول أو كحول أو مركبات كبريتية. وتستخدم الجليكوسيدات القلبية في علاج اضطراب ضربات القلب.^{26,25} كما تؤدي الجليكوسيدات دوراً في مكافحة الجراثيم.^{28,27}

وفي الإطار نفسه، تؤدي العديد من الليبيدات، مثل الأحماض غير المشبعة، دوراً حيوياً فعالاً للحفاظ على الصحة.³¹⁻²⁹ وتعد الصابونينات النباتية من المنتجات الثانوية الطبيعية التي يرتبط فيها الجليكوسيل بثلاثي التربينويد (تربين ثلاثي أو ستيريود).³² وتوجد الصابونينات غالباً في نباتات كاسيات البذور،^{34,33} وتتملك العديد من المركبات ذات الفعالية الحيوية التي تدخل ضمن عقاقير مضادات الأكسدة ومضادات الالتهاب والسرطانات.^{36,35} وتحتوي الكومارينات أيضاً مركبات مضادة للتأكسد وللجراثيم، وتستخدم لعلاج العديد من الأمراض الجلدية.^{38,37,11} وتعتبر الفيتامينات من المغذيات التي يحتاجها جسم الكائن الحي ولا يتم تصنيعها في داخله ولها تأثير حيوي على الصحة.³⁹ تركزت معظم الدراسات السابقة (بحسب علم الباحثين) حول التركيب الكيميائي للزيوت الطيارة والعطرية لأنواع نباتات جنس اللافندر (*Lavandula*)^{41,40} وأشارت بعض هذه الدراسات إلى أن المكونات الرئيسية للزيت هي خليط من تربينات أحادية وثنائية، وسيسكوترينينات، وإسترات، وكيونونات. ولوحظ أن المكونات الأساسية لنباتات جنس اللافندر في مختلف البلدان تشتمل على مركبات الفينول، وعموماً فإن مكونات النبات ونسبها تختلف باختلاف الظروف البيئية والوقت من السنة.⁴²

يمتلك جنس الدورستينا (*Dorstenia*) تشكيلة واسعة من المكونات الفعالة، مثل الفلافونيدات، والفلافونولات، والفلافونونات، والكومارينات والتربينات.⁴⁶⁻⁴³



الشكل 3. نبات الدورستينا فويتيدا (*Dorstenia foetida*).

2-3 تحضير العينة

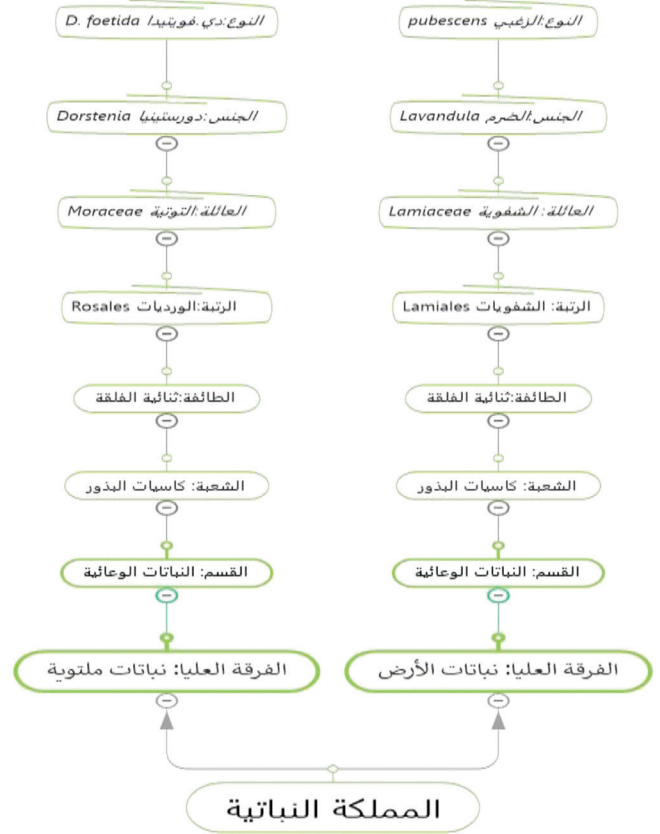
تم أخذ 10mg من البودرة النباتية واستخلصت بـ 500µL من الميثانول عالي النقاوة مع الرج المتقطع ثم رشحت بعد مرور 18 ساعة. تم حقن 5µL من المستخلص الميثانولي لنباتي الدراسة في جهاز (HPLC-TOF-MS).

3-3 تحليل (HPLC-MS)

استخدم في هذا البحث جهاز نوعية (Agilent G1969A LC/MSD TOF)، وتم التحليل بمركز مطيافية الكتلة التابع لجامعة ويسكنسن في ماديسون بالولايات المتحدة الأمريكية. ويوضح الجدول (1) تفاصيل وظروف العمل.

الجدول 1. ظروف إجراء تحليل (LC-MS).

ظروف تشغيل جهاز الكروماتوغرافيا السائل (HPLC Conditions)	
Column	Agilent ZORBAX 80Å Stable Bond SB-C18, Dimensions Particle: 2.1 mm × 50 mm, Pore size: 80 Å, Packed: 1.8 µm insoluble porous beads.
Column temp.	35 °C
Mobile phase	A= 0.1% formic acid in water; B=0.1% formic acid in acetonitrile.
Gradient	2%B at 0 min; 2%B at 1min; ramp to 50%B at 35 min; ramp to 95%B at 40min; ramp back to 2%B at 42 min; hold at 2%B until 60 min. Stop time=60 min (no post-time).
Flow rate	250 µL/min
Autosampler temp.	held at 6 °C
Injection volume.	5 µL



الشكل 1. التصنيف العلمي لنباتي الدراسة.

3- الجانب العملي

1-3 المواد والكواشف

تم جمع أوراق نبات اللافندر الزغبى (الشكل 2) والريزومات لنبات الدورستينا فويتيدا (الشكل 3) من منطقة يافع باليمن، حيث تمت مراعاة أن تكون هذه النباتات سليمة وخالية من الأمراض النباتية. وقد جمعت النباتات في ساعات الصباح الباكر وفصلت الأجزاء النباتية المدروسة عن بقية أجزاء النبات ثم غسلت جيداً بماء الصنبور والماء المقطر ثلاث مرات. جففت الأجزاء المغسولة في الظل عند درجة حرارة الغرفة. وبعد التجفيف، طحنت كل عينة على حدة بواسطة خلاط كهربائي، ثم نُخل المسحوق الناتج بواسطة منخل قطر مسامه (0.25mm) ووضعت البودرة الناعمة لكل عينة في أكياس نايلون معقمة، وحفظت في الثلاجة إلى حين الاستخدام.



الشكل 2. نبات اللافندر الزغبى (*Lavandula pubescens* Decne).

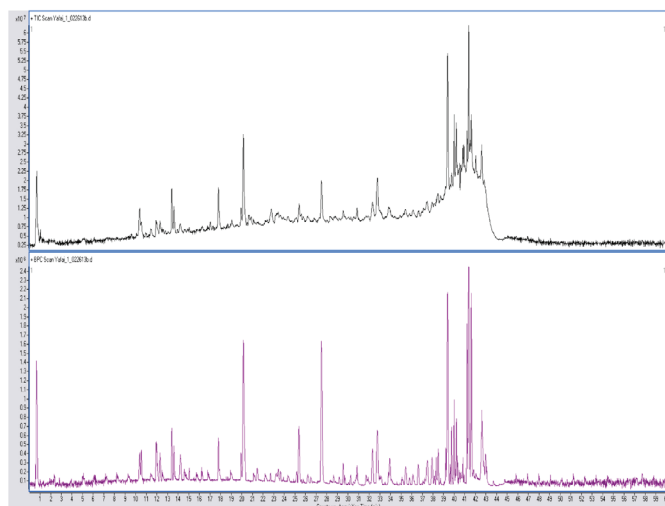
ظروف تشغيل جهاز مطياف الكتلة (MS Conditions)

Source	Positive ESI
Internal standard supplied to ESI source	at 20µL/min via isocratic pump and ionized by secondary ESI needle.
Drying gas flow	10L/min.
Nebulizer gas	30psi
Drying gas temp	350°C
V capillary	3500V
Scan (in positive ion mode)	100-3200m/z
Fragmentor	60V (M+H) ⁺ identification and 130V for fragmentation.
Resolution	10,000 transients/scan with a cycle time of 0.89 cycles/sec.
Reference masses	m/z 121.050873 and 922.009798

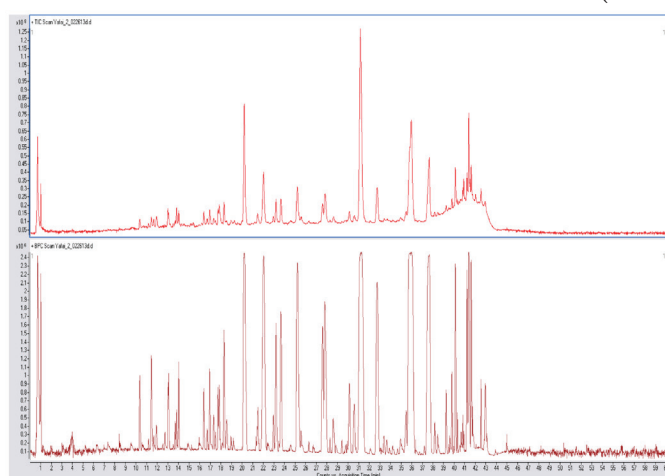
4- النتائج والمناقشة

أظهرت كروماتوغرامات مجموع الأيونات الموجبة (+TIC) عدة قمم في مدى الزمن 0-45 دقيقة، وتم تأكيدها باستخدام كروماتوغرافيا قمع التداخل الموجبة الأساسية (+BPC) (الشكلان 4 و 5).

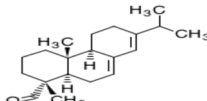
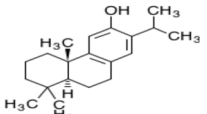
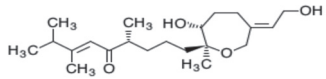
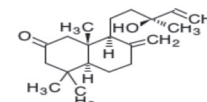
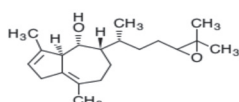
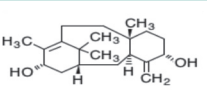
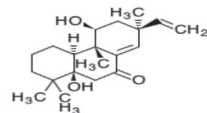
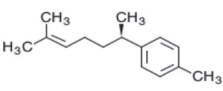
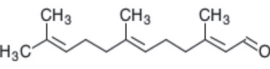
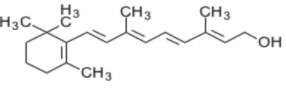
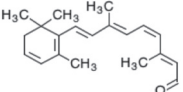
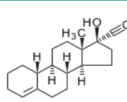
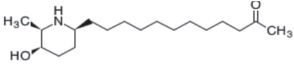
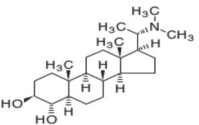
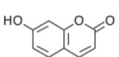
وأشارت نتائج التحليل للكشف النوعي عن المكونات الفعالة في نباتي الدراسة بواسطة (LC-MS) إلى وجود العديد من المركبات الفعالة ذات التأثير الحيوي (الجدولان 3 و 4). ففي نبات اللافندر الزغبي كانت القلويدات الظاهرة في التحليل هي (Terminaline) و (Cassin)، إضافة إلى عدد من التربينات الأحادية والسييسكوتربينات والسترويد، وظهر فيتامين A في أكثر من صورة له مثل الريتنول (A1 Vit) والديهيدروريتينول (A2 Vit) (الجدول 2). وبناء عليه، يمكن أن يكون هذا النبات مصدرًا غذائيًا ودوائيًا مهمًا للمحافظة على الصحة، وبوجود مركبات الريتنول يمكن استخدام نبات اللافندر الزغبي في مستحضرات التجميل للحفاظ على نظارة وجمال البشرة مثلها مثل أنواع اللافندر الإنجليزي والفرنسي المستخدمة في هذا المجال، كما أن وجود التربينات في اللافندر الزغبي يمنحها القدرة على استخدامها مضادًا للجراثيم والفيروسات. بينما كشفت نتائج التحليل لنبات الدورستينا فويتيدا عن وجود أنواع مختلفة من الفلافونيدات والأيزوفلافونيدات والكومارينات والفيورانوكومارينات، إضافة إلى وجود نوع واحد من القلويدات هو قلويد (Cassin)، وبناء عليه يعتبر نبات الدورستينا فويتيدا مصدرًا مهمًا للفلافونيدات والكومارينات، ولعل وجود أنواع من الكومارينات مثل الكومارين المسمى (Psoralen) (الجدول 3) الذي يماثل العقار الطبي المسمى بنفس الاسم والذي يستخدم لعلاج الأمراض الجلدية، يمكن أن يكون مؤشرًا على فعالية نبات الدورستينا فويتيدا في معالجة الأمراض الجلدية، كما يعد دليلًا على صحة استخدامه في الطب الشعبي كعلاج للأمراض الجلدية، مثل البهاق والصدفية.

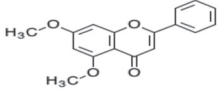
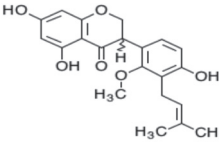
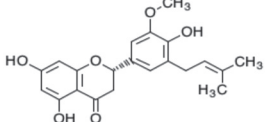
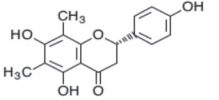
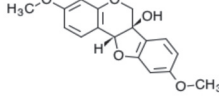
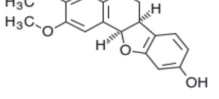
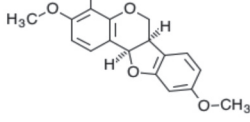
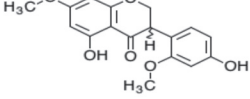
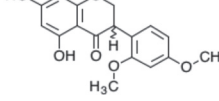
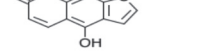
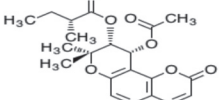
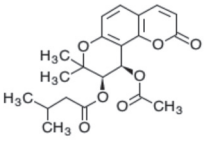
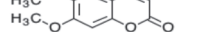


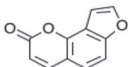
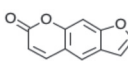
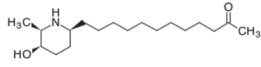
الشكل 4. (TIC+) و (BPC+) لنبات اللافندر الزغبي (*Lavandula pubescens*) (Decne).



الشكل 5. (TIC+) و (BPC+) لنبات الدورستينا فويتيدا (*Dorstenia foetida*).

No	RT (min)	Bioactive Compounds	Name of the Compound	Molecular Formula	MW	Structure
1	40.001	Diterpene; Abietanediterpenoids	Abietal; Abietaldehyde; Abietinal	C ₂₀ H ₃₀ O	286.4516	
2	32.768	Terpenoid; Diterpenoids Abietanes	Ferruginol	C ₂₀ H ₃₀ O	286.4516	
3	39.172	Terpenoid; Diterpenoids	Montanol	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	352.5081	
4	40.002	Terpenoid; Diterpenoids Labdanes	2-Ketoepimanool	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304.4669	
5	29.553	Terpenoid; Diterpenoids	Acutilol A	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304.4669	
6	32.311	Diterpene	Taxa-4(20),11(12)-dien-5alpha,13alpha-diol	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304.4669	
7	25.604	Terpenoid; Diterpenoids	Ineketone	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	318.4504	
8	37.923	Terpenoid; Sesquiterpenoids	alpha-Curcumene; Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-, (R)-	C ₁₅ H ₂₂	202.3352	
9	37.94	Terpenoid; Sesquiterpenoids	2-trans,6-trans-Farnesal; trans,trans-Farnesal	C ₁₅ H ₂₄ O	220.3505	
10	40.522	Vitamin; Fat-soluble vitamin	Retinol; all-trans-Retinol; Vitamin A; Vitamin A ₁	C ₂₀ H ₃₀ O	286.4516	
11	40.422	Vitamin A2 aldehyde	11-trans-Dehydroretinal; Dehydroretinaldehyde	C ₂₀ H ₂₈ O	282.4198	
12	31.717	Lipid Sterol; Steroids	Lynestrenol	C ₂₀ H ₂₈ O	284.4357	
13	38.407	Alkaloid; Piperidine alkaloids	Cassine	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₂	297.476	
14	38.169	Alkaloid; Steroid alkaloids	Terminaline	C ₂₃ H ₄₁ N ₂ O ₂	363.5771	
15	15.048	Coumarin	Umbelliferone; 7-Hydroxycoumarin	C ₉ H ₆ O ₃	162.1421	

No	RT (min)	Bioactive Compounds	Name of the Compound	Molecular Formula	MW	Structure
1	20.197	Flavonoid; Flavones	5,7-Dimethoxyflavone; Chrysin 5,7-dimethyl ether	C ₁₇ H ₁₄ O ₄	282.2907	
2	21.575	Flavonoid; Isoflavonoids	Sophoraisoflavanone A	C ₂₁ H ₂₂ O ₆	370.3958	
3	23.2	Flavonoid; Flavanones	5>-Prenylhomoeriodictyol; Sigmoidin B 3>-methyl ether	C ₂₁ H ₂₂ O ₆	370.3958	
4	23.665	Flavonoid; Flavanones	Farrerol	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.3059	
5	17.328	Flavonoid; Isoflavonoids	(-)-Variabilin	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.3059	
6	17.731	Flavonoids Isoflavonoids	(-)-Sparticarpin	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.3059	
7	17.852	Flavonoid; Isoflavonoids	4-Hydroxyhomopteroicarpin	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.3059	
8	21.186	Flavonoid; Isoflavanones	Cajanol	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	316.3053	
9	25.049	Flavonoids; Isoflavanones	Homoferreirin	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	316.3053	
10	32.742	Coumarin; Furanocoumarins	Bergaptol; 5-Hydroxypsoralen; 5-Hydroxyfuranocoumarin	C ₁₁ H ₆ O ₄	202.1629	
11	18.404	Coumarin	Visnadin; Visnadine	C ₂₁ H ₂₄ O ₇	388.4111	
12	18.301	Coumarin	Dihydrosamidin	C ₂₁ H ₂₄ O ₇	388.4111	
13	17.94	Coumarin	Scoparone; 6,7-Dimethoxycoumarin	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	206.1947	

14	11.986	Coumarin; Furanocoumarins	Angelicin; Isopsoralen	$C_{11}H_6O_3$	186.1635	
15	18.552	Coumarin; Furanocoumarins	Psoralen; Ficusin	$C_{11}H_6O_3$	186.1635	
16	38.449	Alkaloid; Piperidine alkaloids	Cassine	$C_{18}H_{35}NO_2$	297.476	

5- الخاتمة

تم استخدام تقنية عالية الكفاءة للكشف الدقيق عن بعض أنواع المركبات الفعالة حيويًا المستخلصة بمذيب الميثانول من أوراق وريزومات نباتين يستخدمان في الطب الشعبي. وأظهر التحليل وجود عدد من المكونات ذات الاستخدام العلاجي مما يفسح المجال لاستثمار هذه النباتات في علم العقاقير.

المراجع

- Monisha S, Balliah R. Phytochemical determination of a polyherbal extract using FTIR and GC-MS analysis. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 2015;2(7):173-178.
- Ali AM., Saeed AAM, Fdhel TA. Phytochemical analysis and antimicrobial screening of selected Yemeni folk medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2019;7(5):108-114.
- علي ع م، سعيد ع أم، فضل ط أ. التحليل التقريبي لأربعة نباتات طبية تنتمي للعائلتين *Lamiaceae* و *Moraceae* من منطقة يافع- اليمن. مجلة جامعة عدن للعلوم الطبيعية والتطبيقية. 24 (1) 2020. ص 99 - 109. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30360.34566>
- علي ع م، سعيد ع أم، فضل ط أ. التحليل الكيمونباتي لأربعة نباتات طبية من منطقة يافع- اليمن تنتمي للعائلتين *Lamiaceae* و *Moraceae*. مجلة جامعة عدن للعلوم الطبيعية والتطبيقية. 2020; المجلد 24 ، العدد 2 ، ص 331-342.
- Abdu OH, Saeed AAM, Fdhel TA. Polyphenols/Flavonoids analysis and antimicrobial activity in pomegranate peel extracts. *Electronic Journal of University of Aden for Basic and Applied Sciences*. 2020;1(1):14-19. <https://doi.org/10.47372/ejua-ba.2020.1.4>.
- Saeed AAM, Abdu OH, Fdhel TA. HPLC analysis and DPPH assay of some bioactive compounds in pomegranate peel extracts. *Research and Reviews: Journal of Medicinal Chemist*. 2020;2(1):10-23. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3924864>.
- سعيد ع أم ، الحوشي ع س س ،، بازقمة م ص م. التحليل الكمي للزطوبة والرّماد وبعض مضادات الأكسدة في بعض الخضروات المزروعة في دلنا تب، محافظة لحج، اليمن. مجلة أريد للعلوم والتكنولوجيا. 2020; المجلد 3 ، العدد 5 ، ص 59-73. <https://doi.org/10.36772/arid.ajst.2020.353>
- Saxena HO, Soni A, Mohammad N, Choubey SK. Phytochemical screening and elemental analysis in different plant parts of *Uraria picta* Desv: A Dashmul species. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2014;6(5):756-760.
- Edeoga HO, Okwu DE, Mbaebie BO. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 2005;4(7):685-688.
- Hill HF. *Economic botany. A textbook of useful plants and plant products*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill Book Company Inc; 1952.
- Campos MR. *Bioactive compounds health benefits and potential applications*. UK: Elsevier Inc.; 2019.
- Harborne JB. *The flavonoids, advances in research since 1986*. London: Chapman & Hall; 1994.
- Winkel-Shirley B. *Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology*. *Plant Physiology*. 2001;126:485-492.
- Huang Q, Guo Y, Fu R, Peng T, Zhang Y, Chen F. Antioxidant activity of flavonoids from leaves of *Jatropha curcas*. *ScienceAsia*. 2014;40:193-197.
- Garcia O, Castillo J. Update on uses and properties of citrus flavonoids: New findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56(6):6185-6205.
- Kawai M, Hirano T, Higa S, Arimitsu J, Maruta M, Kuwahara Y, et al. Flavonoids and related compounds as anti-allergic substances. *Allergology International: Official Journal of the Japanese Society of Allergology*. 2007;56:113-123.
- Ziegler J, Facchini PJ. Alkaloid biosynthesis: Metabolism and trafficking. *Annual Review of Plant Biology*. 2008;59:735-769.
- Czapski GA, Szypula W, Kudlik M, Wileńska B, Kania M, Danikiewicz W, et al. Assessment of antioxidative activity of alkaloids from *Huperzia selago* and *Diphasiastrum complanatum* using in vitro systems. *Folia Neuropathologica*. 2014;52(4):394-406.
- Karou D, Savadogo A, Canini A, Yameogo S, Montesano C, Simpre J, et al. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*. 2006;5(2):195-200.
- Amarowicza R, Naczka M, Shahidi F. Antioxidant activity of crude tannins of canola and rapeseed hulls. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2000;77(9):957-961.

21. Shohayeb M, Abdel-Hameed E, Bazaid S. Antimicrobial activity of tannins and extracts of different parts of *Conocarpus erectus* L. International Journal of Pharma and Bio Sciences. 2013;3(2): 544–553.
22. Park M, Cho H, Jung H, Lee H, Hwang KT. Antioxidant and anti-inflammatory activities of tannin fraction of the extract from black raspberry seeds compared to grape seeds. Journal of Food Biochemistry. 2014;38:259–270.
23. Strier KB. Primate behavior ecology. Boston: Allyn and Bacon; 2003.
24. Kraus TE, Dahlgren RAC, Zasoski RJ. Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems: A review. Plant and Soil. 2003;256:41–66.
25. Prassas I, Diamandis EP. Novel therapeutic applications of cardiac glycosides. Nature Reviews Drug Discovery. 2008;7:926–935.
26. Newman RA, Yang P, Pawlus AD, Block KI. Cardiac glycosides as novel cancer therapeutic agents. Molecular Interventions. 2008;8:36–49.
27. Afolabi C, Akinmoladun EO, Dan-Ologe IA. Phytochemical constituents and antioxidant properties of extracts from the leaves of *Chromolaena odorata*. Scientific Research and Essays. 2007;2(6):191–194.
28. Qadir U, Paul VI, Ganesh P. Preliminary phytochemical screening and in vitro antibacterial activity of *Anamirta cocculus* (Linn.) seeds. Journal of King Saud University – Science. 2015;27:97–104.
29. Dhankhar J, Sharma R, Indumathi KP. Bioactive lipids in milk. International Food Research Journal. 2016;23(6):2326–2334.
30. Abbas HM, Abd El-Hamid LB, Kassem JM, Salama MI. Bioactive lipids and phospholipids classes of buffalo and goat milk affected by seasonal variations. American Journal of Food Science and Nutrition. 2019;1(2):1–13.
31. سعيد ع أم، سالم ط أ ف، السعيد ف س. التّقدير الكمي للكوليسترول الكلي في بعض ألبان الأسواق اليمنية. مجلة جامعة عدن الإلكترونية للعلوم الأساسية والتطبيقية 2020. المجلد 2، ص 111 – 119. <https://doi.org/10.47372/ejua-ba.2020.2.22>
32. Lacaille-Dubois MA, Wagner H. Bioactive saponins from plants: An update. Studies in Natural Products Chemistry. 2000;21B:633–687.
33. Wink M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. Phytochemistry. 2003;64:3–19.
34. Henry M. Saponins and phylogeny: Example of the “gypsogenin group” saponins. Phytochemistry Reviews. 2005;(4):89–94.
35. Hu JL, Nie SP, Huang D-F, Li C, Xie M-Y. Extraction of saponin from *Camellia oleifera* cake and evaluation of its antioxidant activity. International Journal of Food Science & Technology. 2012;47:1676–1687.
36. Patlolla JMR, Rao CV. Anti-inflammatory and anticancer properties of β -Escin, a triterpene saponin. Current Pharmacology Reports. 2015;1:170–178.
37. Alnufaie R, Raj KC, Alsop N, Whitt J, Chambers SA, Gilmore D, et al. Synthesis and antimicrobial studies of coumarin-substituted pyrazole derivatives as potent anti-*Staphylococcus aureus* agents. Molecules. 2020;25:2758. <https://doi.org/10.3390/molecules25122758>.
38. Godara P, Dulara BK, Barwer N, Chaudhary NS. Comparative GC–MS analysis of bioactive phytochemicals from different plant parts and callus of *Leptadenia reticulata* Wight and Arn. Pharmacognosy Journal. 2019;11(1):129–140.
39. Gökmen V, editor. Acrylamide in food: Analysis, content and potential health effects. Academic Press. Elsevier. 2016.
40. Gilani AH, Aziz N, Khan MA, Shaheen F, Jabeen Q, Siddiqui BS, et al. Ethnopharmacological, evaluation of the anticonvulsant, sedative and antispasmodic activities of *Lavandula stoechas* L. Journal of Ethnopharmacology. 2000;71:161–167.
41. El-Said H, Ashgar SS, Bader A, AlQathama A, Halwani M, Ascrizzi R, et al. Essential oil analysis and antimicrobial evaluation of three aromatic plant species growing in Saudi Arabia. Molecules. 2021;26(959):1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules26040959>.
42. Ali S, Salimi F, Vahid AH. Phytochemical and antimicrobial activities of *Lavandula officinalis* leaves and stems against some pathogenic microorganisms. Journal of Medicinal Plants Research. 2012;6(3):455–460.
43. Vilegasa JHY, Lancas FM, Vilegas W, Pozetti GL. Further triterpenes, steroids and furocoumarins from Brazilian medicinal plants of *Dorstenia* genus (Moraceae). Journal of the Brazilian Chemical Society. 1997;8(5):529–535.
44. Bertin V, Krohn K, Kouam SF, Hussain H, Dongo E, Meier K, et al. A new isobauerane-type triterpenoid and other, minor constituents from the twigs of *Dorstenia dinklagei*. Biochemical Systematics and Ecology. 2008;36:655–658.
45. Heinke R, Franke K, Michels K, Wessjohann L, Ali NAA, Schmidt J. Analysis of furanocoumarins from Yemenite *Dorstenia* species by liquid chromatography/electrospray tandem, mass spectrometry. Journal of Mass Spectrometry. 2012;47:7–22.
46. Ntie-Kang F, Lifongo LL, Mbaze LM, Ekwelle N, Owono LCO, Megnassan E, et al. Cameroonian medicinal plants: A bioactivity versus ethnobotanical survey and chemotaxonomic classification. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2013;13:147.
47. الخليدي، ع أ. نباتات برية من اليمن، وزارة السياحة والبيئة، اليمن، كتيب 2002، ص 41.
48. Omisore NOA, Adewunmi CO, Iwalewa EO, Ngadjui BT, Adenowo TK, Abegaz BM, et al. Antitrichomonal and antioxidant activities of *Dorstenia barteri* and *Dorstenia convexa*. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2005;38:1087–1094.
49. Heinke R, Franke K, Porzel A, Ludger AW, Ali NAA, Schmidt J. Furanocoumarins from *Dorstenia foetida*. Phytochemistry. 2011;72:929–934.
50. WHO. Monographs on selected medicinal plants. 2007; vol. 3. Report of a WHO global survey, WHO, Geneva.
51. Saadatian M, Aghaei M, Farahpour M, Balouch Z. Chemical composition of lavender (*Lavandula officinalis* L.) extraction extracted by two solvent concentrations. Global Journal of Medicinal Plant Research. 2013;1(2):214–217.
52. Steinmann D, Ganzera M. Recent advances on HPLC/MS in medicinal plant analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2011;(55):744–757.
53. Sheemole MS, Antony VT, Kala K, Saji A. Phytochemical analysis of *Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn. fruit using LC–

- MS technique. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 2016;36(1):244–248.
54. Liebler D C, Burr JA, Philips L, Ham AJ. Gas chromatography–mass spectrometry analysis of vitamin E and its oxidation products. Analytical Biochemistry. 1996;236:27–34.
55. Banerjee S, Mazumdar S. Electrospray ionization mass spectrometry: A technique to access the information beyond the molecular weight of the analyte. International Journal of Analytical Chemistry. 2012;article ID. 282574:40 pages. <https://doi.org/10.1155282574/2012/>.
56. Saeed AAM, Ali AM, Fdhel TA. HPLC-ESI-MS analysis of some bioactive substances in Two Yemeni medicinal plants. Electronic Journal of University of Aden for Basic and Applied Sciences. 2020;1(4):225–235. <https://doi.org/10.47372/ejua-ba.2020.4.60>.